

# **PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DER ÄTHERLÖSLICHEN KEIMUNGS- UND WACHSTUMSHEMMENDEN STOFFE DER HAFERSPELZE.**

Von

**E. KÖVES**

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Szeged.  
(Eingegangen am 10. Oktober 1957)

## **Einleitung**

Über Untersuchungen, die mit den in den einzelnen Teilen der Haferpflanze (Wurzel, Stroh, Körner) auffindbaren keimungs- und wachstumshemmenden Substanzen unter Anwendung verschiedener Methoden durchgeführt worden sind, gibt die Literatur Aufschluss (11, 12, 31, 25, 22), eingehende Untersuchungen der Hemmstoffe in der Haferspelze haben aber noch nicht stattgefunden. Nach EVENARY (12) ist in der Haferspelze ein Inhibitor und eine nichtspezifische wachstumsfördernde Substanz enthalten.

Die bisherige Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Haferspelze einerseits Stoffe enthalten muss, welche auf das hydrolysierende Enzymsystem einwirken und die im engeren Sinne genommene Keimung, die Mobilisation der Nährstoffe hemmen, während andere Inhibitoren die Keimung infolge Hemmung des Embryonenwachstums hintanhaltend. Um die Richtigkeit dieser Vermutung beweisen zu können und zur chemischen Identifizierung der Stoffe hat sich die papierchromatographische Untersuchung der wasser- und ätherlöslichen Hemmstoffe der Haferspelze als notwendig erwiesen.

## **Versuchsmaterial und Methoden**

Das Material der Untersuchungen war die Spelze von 1955 und 1956 geerntetem »Fleischmann«-Hafer. Die Körner wurden von der Spelze befreit und die Spelze mit der zehnfachen Gewichtsmenge Wasser 24 Stunden lang inkubiert. Dieser wässrige Extrakt wurde in Gegenwart von Methylorange mit 0,5 N HCl bis zu pH 2,8 titriert und — so angesäuert — mit peroxydfreiem Äthyläther dreimal je 5 Minuten lang ausgeschüttelt, dann die ätherische Fraktion bei 60° C eingedampft und der konzentrierte Extrakt papierchromatographisch (Schleicher & Schüll Nr. 2043) untersucht.

Die für die biologischen Teste benötigten Chromatogramme wurden mit einem Solvens aus Isopropanol, Ammoniak und Wasser im Verhältnis 10:1:1 (1. Lösungsmittel) angefertigt. Zur Identifizierung der Hemmstoffe haben wir aber auch noch die folgenden Solvenssysteme angewandt: mit 5 N Ammoniak gesättigtes Butanol (2. Lösungsmittel), 10%-ige Essigsäure (3. Lösungsmittel) und ein Butanol-Essigsäure-Wassergemisch 4:1:5 (4. Lösungsmittel). In sämtlichen Fällen handelt es sich um aufsteigende Chromatogramme.

Die biologische Untersuchung der Chromatogramme geschah auf die übliche Weise mit verschiedenen Körner-Testen und *Avena*-Koleoptyltesten (4, 23, 10), wobei als Testobjekte *Avena sativa* L. »Fleischmann«, *Panicum miliaceum* L., *Amaranthus albus* L., *Papaver somniferum* L. »Fertődi kék« und *Sinapis alba* L. -Körner benutzt wurden. Die Körner kamen — auf Papier ausgebreitet — in einen Thermostaat von 25° C zur Inkubation und dann wurde ihre prozentuelle Keimungsintensität — verglichen mit der der Kontrollen — sowie das Wachstum der Wurzeln und Triebe verfolgt (ausgedrückt in mm).

Die Wirkung der papierchromatographisch abgetrennten Hemmstoffe auf die Amylase wurde folgendermassen geprüft: In Petrischalen wurden Platten folgender Zusammensetzung ausgegossen: 1%-iger Agar-Agar, 0,5% Stärke und 0,05% Amylase. Im Mittelpunkt der Platten wurden Glaskapillaren senkrecht befestigt und diese mit den von den Flecken herausgelösten Substanzen beschickt, die dann allmählich in die Agarplatten hineindiffundierten. Nach 44-stündiger Inkubation bei 30° C erfolgte Entwicklung der Platten mit J—JK-Lösung und Vergleich der Grösse der zersetzten bzw. unzersetzt gebliebenen Stärkezone mit der der Kontrollen.

Zwecks Identifizierung der Hemmstoffe wurden die Chromatogramme im UV-Licht analysiert, mit Bromkresolgrün oder Methylrot und mit den bei der Erörterung der Versuchsergebnisse erwähnten spezifischen Reagenzien besprüht. Die Identifizierung der Hemmstoff-Flecken geschah auf Grund der in den verschiedenen Solventien erhaltenen  $R_f$ -Werte, der Fluoreszenz im UV-Licht, der Besprühungsreaktionen und des Vergleiches mit den Eigenschaften der zur Verfügung stehenden synthetischen Chemikalien.

## Experimentelle Ergebnisse

### I. Biologische Untersuchung der wässerigen und ätherlöslichen Hemmstoffe der Haferspelze

Orientierungsweise haben wir zunächst die biologische Wirkung der wässerigen Extrakte in zehnfacher Verdünnung geprüft. Die Haferspelze bewirkte bei den ölhaltigen *Sinapis*- und *Papaver*-Körnern eine starke Hemmung, bei den stärkehaltigen *Avena*- und *Triticum*-Körnern dagegen eine gewisse Keimungsförderung. Nach 36–60 Stunden Einwirkungsdauer trat auch eine beträchtliche Hemmung des Wurzelwachstums in Erscheinung. Die wässerigen Extrakte hemmten auch die Längsstreckung der Koleoptylsektionen, und zwar noch bei 100-facher Verdünnung der Stammlösung (1:10). Das Wachstum der Sektionen betrug — im Verhältnis zu dem der Kontrollen — 77,2% und in der 100-fachen Verdünnung 96%.

Die biologische Untersuchung der aus ätherischen Extrakten der Spelze angefertigten Chromatogramme ergab folgendes (s. Abb. 1 und 2).

Abbildung 1 veranschaulicht die auf die Keimung der *Amaranthus*- und *Sinapis*-Körner ausgeübte Wirkung der Eluate aus den Chromatogrammmstreifen. Die Chromatogramme lassen zwei grössere und eine kleinere Hemmungszone erkennen, deren untere bei  $R_f$  0,0–0,4 liegt. Hier beträgt die Keimungshemmung im Falle der *Amaranthus*-Körner im ersten cm 15% und bei den *Sinapis*-Körnern 35%. Ihr Maximum erreicht die Aktivität des Fleckes in den ersten 3 cm, um dann bis zu 8 cm allmählich nachzulassen. Nach diesen

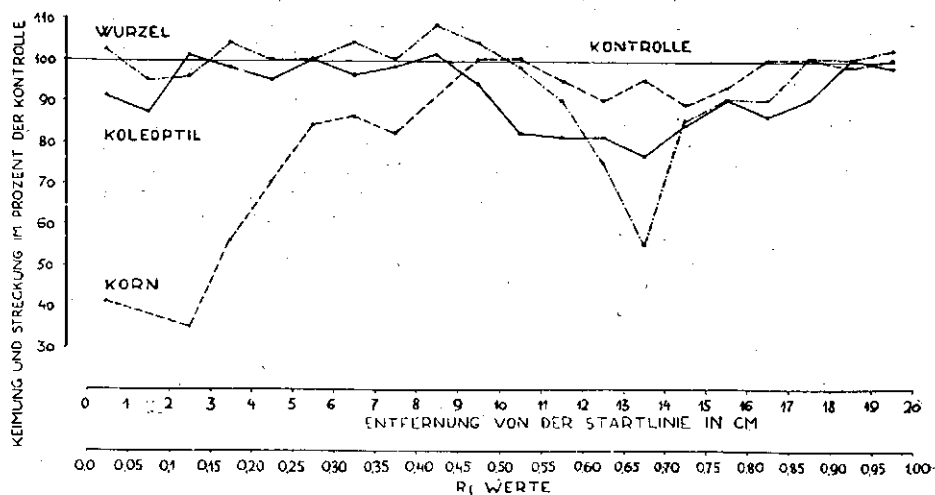


Abb. 1. Keimung der Samen von *Amaranthus* und *Sinapis* in Eluate der 1 cm langen Streifen des aus dem ätherischem Extrakt der Haferspелze verfertigten Kromatogramms. Mittelwerte aus 4 gleichlaufenden Untersuchungen. (Fehlerbereich  $\pm 3\%$ )

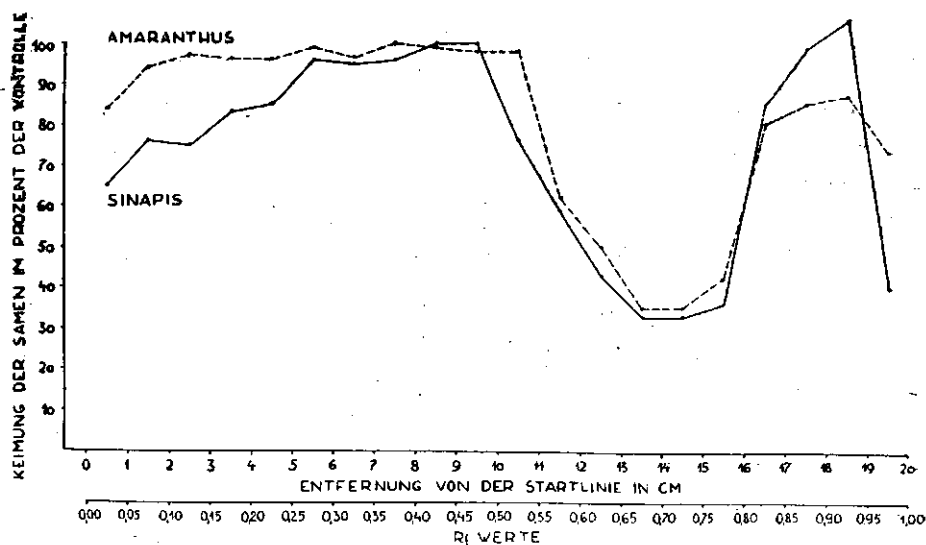


Abb. 2. Wirkung der Eluate der Kromatogrammstreifen auf Keimung der Haferkörner und auf Streckung der Wurzeln und Koeleptyl-Sektionen der Haferkeimplanzen. Mittelwerte aus 4 gleichlaufenden Untersuchungen. (Fehlerbereich  $\pm 3\%$ ).

Beobachtungen bewirken die Stoffe dieses aktiven Fleckes eine hauptsächlich im Prozentsatz und in der Intensität der Keimung zum Ausdruck kommende Hemmung, während sie die spätere Streckung der Keimpflanzenwurzeln nicht oder nur in unbedeutendem Grade hemmen. Das andere wesentliche Hemmungsgebiet liegt gewöhnlich bei den  $R_f$ -Werten 0,60—0,85. Die hier lokalisierten Stoffe haben sich im Falle der *Amaranthus*- und *Sinapis*-Körner als sehr aktiv erwiesen: im Zentrum der Flecken ( $R_f$  0,70) wurde nämlich eine Keimungshemmung um 60—65% beobachtet. Im letzten cm der Chromatogramme ( $R_f$  0,95—1,0) war ebenfalls eine ziemlich beträchtliche Keimungshemmung feststellbar.

Abbildung 2 führt den auf die Keimung des Hafers sowie auf die Verlängerung der Wurzeln und Koleoptylsektionen der Haferkeimpflanzen ausgeübten Effekt der Eluate aus den Chromatogramistreifen vor Augen. Der untere Hemmfleck der Chromatogramme bewirkt eine Verzögerung der Keimung der Haferkörner um etwa 65%, während er nur eine unbedeutende Hemmung der Verlängerung der Wurzeln und Koleoptylsektionen zur Folge hat, ja letztere manchmal sogar fördert. Die Hemmzone zwischen  $R_f$  0,60 und 0,85 wirkt dagegen in umgekehrtem Sinne. Hier ist die Keimungshemmung sozusagen eine unbedeutende im Verhältnis zur Hemmung des Koleoptyl- und Wurzelwachstums. Dies weist darauf hin, dass das erste aktive Gebiet hauptsächlich die Keimung (Amylaseaktivität), und das zweite eher das Längenwachstum beeinflussende Stoffe enthält.

Beachtenswert ist, dass im Falle des Hafers die erheblichste Keimungshemmung auf den untersten Fleck der Chromatogramme entfällt (Abb. 2), während in den anderen beiden Testen die grösste Hemmwirkung im Bereiche der  $R_f$ -Werte von 0,60—0,85 beobachtet wurde (Abb. 1). Auf Grund dieser Befunde nahmen wir an, dass die im unteren Fleck lokalisierten amy-lasehemmenden Substanzen eine spezifische Wirkung auf die Haferkörner entfalten.

Was den unteren Abschnitt der Chromatogramme zwischen 0,0 und 0,3  $R_f$  anbetrifft, macht sich — gegenüber den dargestellten Ergebnissen der Versuche an dem Erntegut des Jahres 1955 — im Falle der Haferspelze des Jahres 1956 an diesem Gebiete anstatt einer Hemmung eine mässige Stimulation bemerkbar. Diese Erscheinung haben wir mit dem infolge der abweichenden Konzentrationsverhältnisse der hier lokalisierten Stoffe zustandekommenden Wirkungswechsel erklärt, und in der Tat konnte im Laufe der weiteren Versuche der Beweis erbracht werden, dass das Eluat dieses Hemmgebietes im Falle beider biologischer Tests in grösseren Konzentrationen einen hemmenden, in kleineren Konzentrationen aber einen stimulierenden Effekt auslöst.

In weiteren Versuchen haben wir dann die ätherlöslichen Substanzen grösserer Mengen Haferspelze (200g) chromatographiert. Die beiden oben erwähnten grossen Hemmflecke wurden mit Wasser eluiert und dann mit Hilfe der Diffusionsmethode ihre Wirkung auf die Amylaseaktivität studiert. In dieser Versuchsreihe konnte eine hochgradige Hemmfunktion in den Eluat-ten der Flecke bei 0—3 cm festgestellt werden, auf der Strecke zwischen 12 und 17 cm war dagegen nur eine unbedeutende Hemmung zu verzeichnen, wodurch unsere bei der Auswertung der Körnerteste entwickelte Meinung,

dass der untere Fleck in erster Linie die Keimung, bzw. das hydrolysierende System im engeren Sinne, hemmend beeinflusst, eine Bestätigung erfahren hat.

## II. Identifizierung der Hemmflecken-Stoffe

Die Identifizierung der papierchromatographisch isolierten Inhibitoren geschah auf Grund der  $R_f$ -Werte, der UV-Fluoreszenz und der mit folgenden Reagenzien erhaltenen Farbreaktionen:

- a) Bromkresolgrün (BCG) 0,04%-ige Lösung, mit NaOH auf blau eingestellt (9),
- b) Methylrot, 0,04%-ige Lösung (MR), mit NaOH auf rot eingestellt (9),
- c) 0,5-ige  $\text{FeCl}_3$ -Lösungen in Methanol (24),
- d) diazotierte Sulfanilsäure nach MANN (c. f. 19),
- e) diazotiertes p-Nitroanilin nach BRAY (c. f. 5).

Auf Grund der Besprühung mit den Bandenentwicklern haben sich die wirksamen Flecke als Säuren erwiesen. Nachdem die sauren Fraktionen der ätherischen Extrakte verschiedener Pflanzenbestandteile nach den bisherigen Untersuchungen (6, 7, 15, 20, 30) aromatische, und häufig Oxysäuren enthielten, musste vorwiegend an derartige Stoffe gedacht werden. Aus diesem Grunde haben wir bei den weiteren Besprühungen Phenolreagenzien benutzt. Mit Hilfe dieser Verfahren konnten an den Chromatogrammen 4 Flecke mit grosser Wahrscheinlichkeit identifiziert werden.

Fleck A:  $R_f$ -Wert im ersten Solvens: 0,07  
 $R_f$ -Wert im zweiten Solvens: 0,075  
 $\text{FeCl}_3$ -Reaktion: bläulichschwarz  
mit diazotierter Sulfanilsäure: keine Reaktion  
mit diazotiertem p-Nitroanilin: keine Reaktion  
UV-Fluoreszenz: hellblau, in  $\text{NH}_3$  grünlichgelb.

Auf Grund dieser Befunde ist an die Anwesenheit von Gerbstoffen in diesen Chromatogrammzonen zu denken (24). Zur Bestätigung dieser unserer Hypothese haben wir reine Gallussäure und Tannin unter ähnlichen Umständen chromatographiert und das Verhalten ihrer Flecke mit den obigen Daten verglichen. Die Übereinstimmungen deuten darauf hin, dass in dem ersten Fleck tatsächlich Gerbstoffe vorliegen. Das Eluat des Fleckes aber gab keine freie Gallussäure-Reaktion.

Fleck B:  $R_f$ -Wert im ersten Solvens: 0,24  
          "      im zweiten Solvens: 0,125  
          "      im dritten Solvens: 0,50  
 $\text{Fe}_3\text{Cl}$ -Reaktion: goldbraun  
mit diazotiertem p-Nitroanilin: blau  
UV-Fluoreszenz: grünlichblau

Die Eigenschaften und die Farbreaktionen des Fleckes sprechen für p-Kumarsäure oder Ferulasäure (19, 5, 26, 27, 7, 30). Das Ergebnis zugunsten der einen oder der anderen Verbindung zu entscheiden war nicht mit Sicherheit möglich. Am wahrscheinlichsten ist, dass beiden Säuren nebeneinander vorhanden sind.

Fleck C:  $R_f$ -Werte im ersten Solvens: 0,36  
 „ im zweiten Solvens: 0,12  
 $\text{Fe}_3\text{Cl}$ -Reaktion: hellbarun  
 mit diazotierter Sulfanilsäure: gelb  
 mit diazotiertem p-Nitroanilin: rot  
 keine UV-Fluoreszenz.

In Anbetracht dieser Daten haben wir den Fleck als p-oxy-Benzoesäure qualifiziert (19, 27, 7).

Fleck D:  $R_f$ -Werte im ersten Solvens: 0,61  
 „ im zweiten Solvens: 0,58  
 „ im dritten Solvens: 0,60  
 $\text{Fe}_3\text{Cl}$ -Reaktion: violett  
 mit diazotierter Sulfanilsäure: gelb  
 mit diazotiertem p-Nitroanilin: gelb  
 UV-Fluoreszenz: lebhaft bläulich-violett.

Die Eigenschaften dieses Fleckes stehen in voller Übereinstimmung mit denen der reinen Salicylsäure. Deshalb — und auch in Anbetracht der Literaturangaben (5, 30) — muss diese Substanz als Salicylsäure angesehen werden.

An den Chromatogrammen war auch noch ein fünfter Fleck bei  $R_f$  0,72 zu beobachten, der jedoch nicht identifiziert werden konnte. Unseres Erachtens dürfte es sich hierbei um ein Zimtsäurederivat handeln (5, 27). Eine Farbenreaktion mit den obigen Reagenzien wurde nicht erhalten. Die Eigenfarbe des Fleckes ist in alkalischem Medium gelb, der Geruch erinnert an Kumin. In Wasser, Aether und Methanol leicht lösliche Substanz, die im UV-Licht eine gelblichgrüne Fluoreszenz zeigt.

Die Ergebnisse der Identifizierungsversuche sind auch durch die Prüfung der biologischen Wirkung der entsprechenden synthetischen Stoffe unterstützt worden. Hier zeigte sich, dass die Gerbstoffe in höheren Konzentrationen (Gallussäure bis zu  $10^{-5}$  Mol und Tannin bis zu  $10^{-3}$  Mol) das Austreiben der Samen und die Amylaseaktivität hemmen, während niedrigere Konzentrationen (bis zu  $10^{-6}$  Mol bzw. 5,  $10^{-6}$  g/l) sie fördernd beeinflussen. Die höheren Gerbstoffkonzentrationen bewirken nur eine geringfügige Behinderung des Längenwachstums der Koleoptylsektionen. Die Salicylsäure dagegen, sowie auch die verschiedenen Zimtsäureabkömmlinge, üben eine starke Hemmung auf das Wachstum der Koleoptylsektionen aus, und eine wachstumsstimulierende Wirkung ist selbst auch in hohen Verdünnungen nicht nachweisbar. Die erhaltenen Resultate stehen also im Einklang mit der biologischen Wirkung der Eluate aus den Chromatogrammstellen.

## Diskussion

Die Ergebnisse unserer chromatographischen Untersuchungen der in der Haferspizze enthaltenen Hemmstoffe stimmen zum überwiegenden Teil mit den in der Literatur bisher veröffentlichten einschlägigen Angaben überein.

Als Komponenten des das Wachstum am stärksten hemmenden Fleckes ( $R_f$  0,60—0,85) konnten Salicylsäure und ein näher noch nicht bestimmtes Zimtsäurederivat nachgewiesen werden. Zu erwähnen ist, dass die Lage dieses Inhibitorgebietes mit der von BENNET-CLARK und KEFFORD (3) mit-

geteilten hochwirksamen Hemmzone übereinstimmt, welche diese Autoren aus Bohnenwurzeln und *Aegopodium Rhizoma* isoliert hatten und deren wirksame Substanz bisher noch nicht identifiziert worden ist ( $\beta$ -Inhibitor). Diese Hemmungszone konnte seither mit der gleichen Methode auch an den Chromatogrammen von verschiedenen anderen Pflanzenteilen nachgewiesen werden (2, 29, 17). Es ist anzunehmen, dass in dieser  $\beta$ -Inhibitorzone der Haferspelze ausser den beiden obigen Verbindungen auch noch andere Stoffe an dem Hemmeffekt beteiligt sind, da an den die Ergebnisse veranschaulichenden Histogrammen die Hemmzone eine wesentlich breitere ist, als sie durch die erwähnten beiden Substanzen hervorgebracht werden kann.

Es gelang ferner, auch noch einige Inhibitoren geringeren Wirkungsgrades, wie z. B. p-oxy-Benzoesäure und p-Kumarsäure bzw. Ferulasäure in dem ätherischen Extrakt der Haferspelze zu identifizieren. BÖRNER (6, 7) hat im Laufe seiner papierchromatographischen Untersuchungen aus Getreidestroh und Getreidewurzelresten ebenfalls p-oxy-Benzoesäure, und daneben p-oxy-Zimtsäure nachweisen können, welche Stoffe stark hemmend auf das Wachstum der Keimpflanzenwurzeln von Weizen und Roggen einwirkten. Nach unseren Untersuchungen haben sich aber als Wachstumsinhibitoren die Salicylsäure und das noch nicht genau bestimmte Zimtsäurederivat als weit wirksamer erwiesen als diese Verbindungen.

Benzoesäure- und Zimtsäureabkömmlinge sind von anderen Autoren auch aus Säurefraktionen der ätherischen Extrakte anderer Pflanzenteile nachgewiesen worden. MASSART (20) teilte die Anwesenheit der erwähnten hemmenden Stoffe in Zuckerrüben, GRIFFITHS (15) aus der *Theobroma cacao* L. und VARGA (30) aus verschiedenen Fleischfrüchten mit. Die Tatsache, dass die oxy-Benzoesäuren und die oxy-Zimtsäuren in der letzten Zeit in immer mehreren und verschiedenere Pflanzenteilen nachgewiesen werden konnten, macht die allgemeine und weite Verbreitung dieser Stoffe in der Pflanzenwelt als natürliche Inhibitoren immer wahrscheinlicher. Diese Inhibitorengruppe hemmt den Untersuchungsergebnissen zufolge in physiologischen Konzentrationen in erster Linie das Wachstum; ihr keimungshemmender Effekt dürfte auf der Hemmung des embryonalen Wachstums beruhen.

Die im engeren Sinne genommenen keimungshemmenden Substanzen der Haferspelze, deren Wirkung in erster Linie auf das hydrolysierende Enzymsystem gerichtet ist, glauben wir in den Gerbstoffen angetroffen zu haben. Unter physiologischen Bedingungen müssen die Gerbstoffe nicht unbedingt hemmender Natur sein, sondern möglicherweise ist ihre Rolle eher die Wachstumsförderung.

Unsere Hypothese, dass die an dem Chromatogramm der Haferspelze beobachteten Gerbstoffe in erster Linie die Aktivität der hydrolysierenden Enzyme beeinflussen, wird auch durch die von AMMON und DIRSCHERL (1) mitgeteilte Tatsache bekräftigt, dass die Gallussäuresalze die Lipase zu aktivieren vermögen. Der amylasehemmende Effekt der Gerbstoffe ist auch von JENTYS (16), MYRBÄCK (21), OPARIN und KURSANOW (23), sowie von EHRENBURG (10) nachgewiesen worden. FRIEDRICH (13) dagegen hat in Gegenwart von Gerbstoffen eine Verminderung der Aktivität der  $\beta$ -Glukosidase festgestellt.

Die bei  $R_f$  0,90—1,0 in Erscheinung tretende Hemmungswirkung ist dem Effekt ätherischer Öle zuzusprechen, was durch den  $R_f$ -Wert, den Chromatogrammpapier an dieser Stelle auftretenden Ölfleck, den ausdrücklich spürbaren Geruch erwiesen scheint. Diese Vermutung steht auch mit Angaben aus der Literatur im Einklang (30).

### Zusammenfassung

1. Aus der sauren Fraktion der aus der Haferspelze gewonnenen ätherischen Extrakte konnten mittels eines mit Papierchromatographie verbundenen biologischen Testes wachstums- und keimungshemmende Substanzen nachgewiesen werden. Die Identifizierung der Hemmstoffe geschah mit Hilfe der in verschiedenen Solvenssystemen beobachteten  $R_f$ -Werte, Besprühung der Chromatogramme mit verschiedenen Reagenzien und auf Grund der UV-Fluoreszenzerscheinungen.

2. An der Strecke zwischen  $R_f$  0,0 und 0,17 konnten in den Chromatogrammen Gerbstoffe nachgewiesen werden, welche die Streckung der Koleoptylsektionen in geringem, die Keimung der Haferkörner aber, sowie auch die Amylaseaktivität, in sehr bedeutendem Masse zu hemmen vermochten.

3. Bei  $R_f$  0,25 fanden wir p-oxy-Benzoesäure und bei  $R_f$  0,38 p-Kumarsäure bzw. Ferulasäure, welche hauptsächlich die Keimung der Testkörner hemmend beeinflussten.

4. Die zwischen den  $R_f$ -Werten 0,60 und 0,85 beobachtete Hemmungszone, welche die Längsstreckung der Koleoptylsektionen und das Wurzelwachstum, sowie die Keimung der *Amaranthus*- und *Sinapis*-Körner hemmte, hatte auf die Keimung der Haferkörner kaum einen Einfluss. Aus dieser Hemmungszone konnte Salicylsäure ( $R_f$  0,65) und bei  $R_f$  0,70 noch ein weiterer sehr aktiver Inhibitor nachgewiesen werden, bei dem es sich vermutlich um irgendein Zimtsäurederivat handelt.

### Schrifttum

- (1) Ammon, R., und W. Dirscherl: Fermente, Hormone, Vitamine. Leipzig, (1948).
- (2) Audus, L. J., and R. Thresh: Ann. Bot., **20**, 339—459, (1956).
- (3) Bennet-Clark, T. A., and N. P. Kefford: Nature, **171**, 645, (1953).
- (4) Bentley, J. A., and S. Housley: Physiol. Plant., **7**, 405—419, (1954).
- (5) Block, R. J.—E. L. Durrum and G. Zweig: A manual of paper chromatography and paper electrophoresis. New-York, (1955).
- (6) Börner, H.: Naturwiss., **42**, 583, (1955).
- (7) Börner, H.: Naturwiss., **43**, 129, (1956).
- (8) Clarke, D. D., and F. F. Nord: c. f. Peach, K. and M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse **3**, 332—350, (1955).
- (9) Cramer, F.: Papierchromatographie. Weinheim, (1953).
- (10) Ehrenberg, M.: Biochem. Z., **325**, 102, (1954).
- (11) Elliot B. B., and A. C. Leopold: Physiol. Plant., **6**, 65—77, (1953).
- (12) Evenari, M.: Bot. Rev. **15**, 153—194, (1949).



- (13) *Friedrich, H.*: Biochemie der Kulturpflanzen. Berlin, (1956).
- (14) *Funke, H.*, und *Söding, H.*: *Planta*, **36**, 340–370, (1949).
- (15) *Griffiths, L. A.*: *Nature*, **180**, 286–287, (1957).
- (16) *Jentys, St.*: *Verh. Akad. Wiss. Krakau* (1893).
- (17) *Kefford, N. P.*: *Jour. Exp. Bot.*, **6**, 129–151 und 245–255, (1955).
- (18) *Larsen, P.*: c. f. *Peach, K.*, and *M. V. Tracey*: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. **3**, 565–625, (1955).
- (19) *Lederer, E.*, and *M. Lederer*: *Chromatography*. Amsterdam–Houston–London–New-York, (1954).
- (20) *Massart, L.*: *Biochimica*, **22**, 417–420, (1957).
- (21) *Myrbäck, K.*: *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.*, **1**, 159, (1926).
- (22) *Niemann, E.*: *Flora*, **2**, 185–242, (1952).
- (23) *Oparin, A.*, und *A. Kursanov*: *Biochem. Z.*, **209**, 191, (1929).
- (24) *Schmidt, O. Th.*: c. f. *Peach, K.*–*M. V. Tracey*: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. **3**, 517–548, (1955).
- (25) *Schönbeck, F.*: *Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **63**, 514–545, (1956).
- (26) *Stevens, G.*, and *F. F. Nord*: c. f. *Peach, K.*–*M. V. Tracey*: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. **3**, 392–427, (1955).
- (27) *Swain, T.*: *Biochem. Jour.*, **53**, 200–207, (1953).
- (28) *Varga, M.*, and *L. Ferenczy*: *Naturwiss.*, **44**, 398–399, (1957).
- (29) *Varga, M.*, and *L. Ferenczy*: *Acta Bot. Hung.* **3**, 111–121, (1957).
- (30) *Varga, M.*: *Acta Biol. Szeged.*, **3**, 225–232, (1957).
- (31) *Winter, A.*, und *F. Schönbeck*: *Naturwiss.*, **40**, 513, (1953).